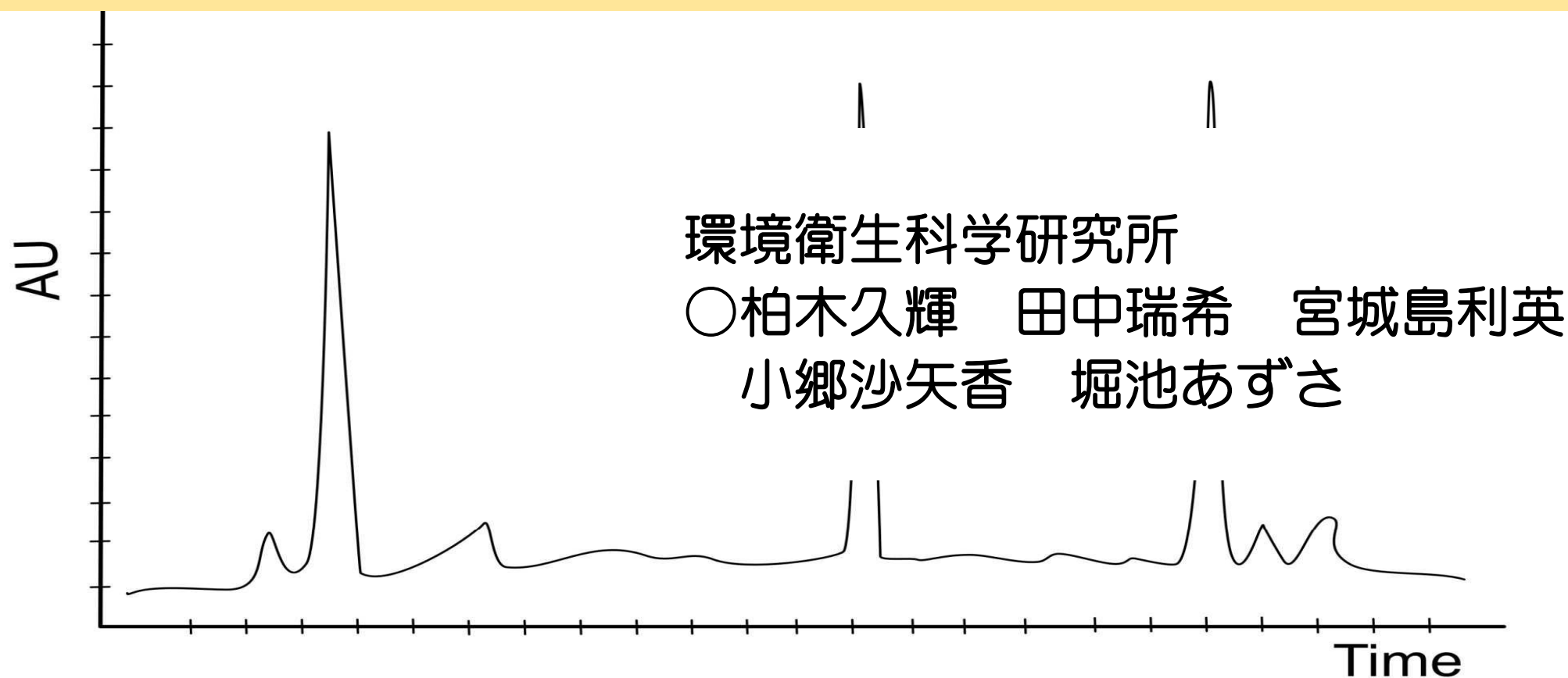


食品中のグリホサート分析法の開発



【背景】

グリホサートについて

※ アミノ酸系除草剤

※ 農業用や家庭用として広く使用されている

※ 摂取すると吐き気、頭痛、下痢などの症状が出る

※ 過去に食品への混入事件あり



【背景】

緊急検査必要時



グリホサートは一斉分析法で測定できない



公定法は複雑で時間が掛かる



簡便かつ迅速に実施可能な検査方法が必要

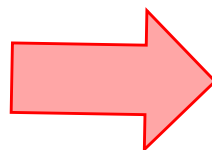
【目的】

3

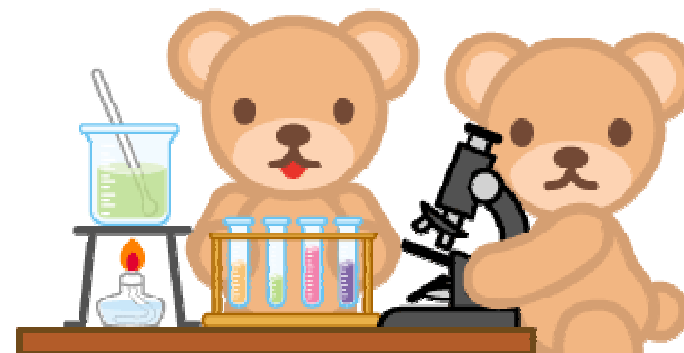
食品へのグリホサート混入事例に
対応可能な分析法を確立

健康危機管理事例発生時の

検査体制強化
速やかな原因特定

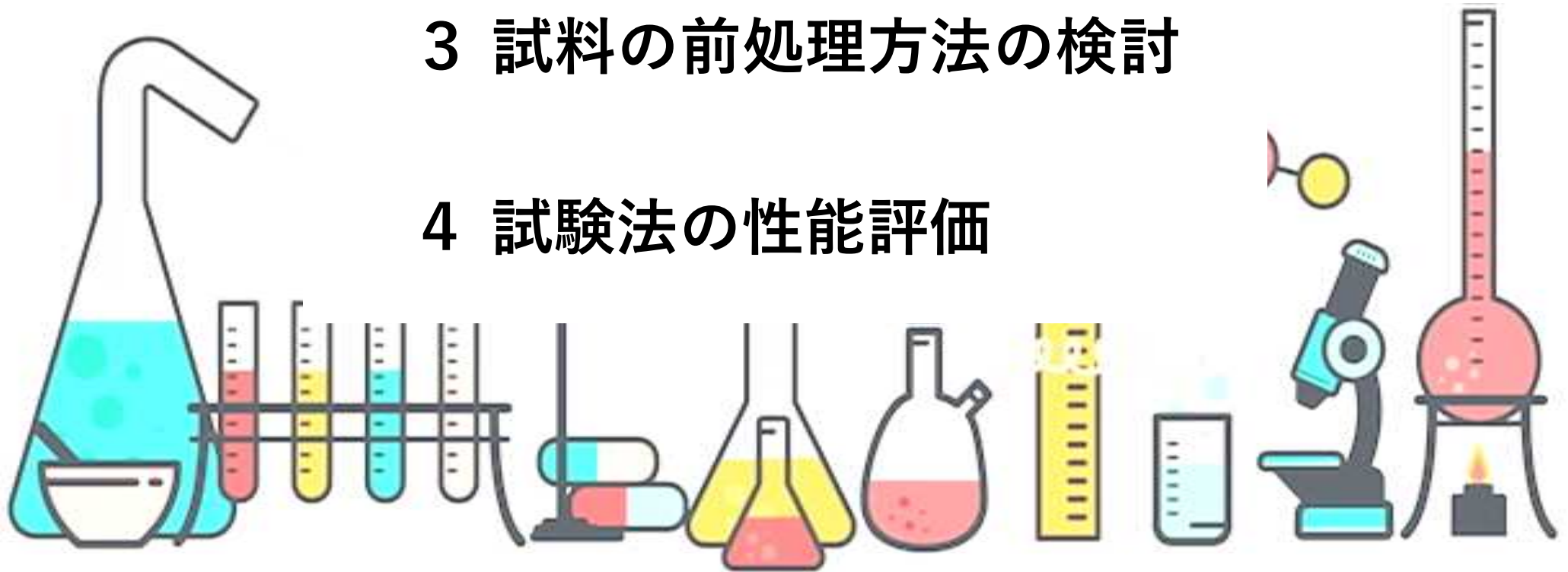


健康被害拡大を防止



【方法】

- 1 対象とする食品の選定
- 2 分析条件の検討
- 3 試料の前処理方法の検討
- 4 試験法の性能評価



【結果】① 対象とする食品の選定

5

9 品目を選定

過去の混入事例

・ 清涼飲料水（緑茶） ・ ぎょうざ ・ ソース

残留が懸念

・ ハチミツ ・ 大豆 ・ 小麦粉

食品の成分等を考慮

・ 牛乳 ・ マヨネーズ ・ カレー



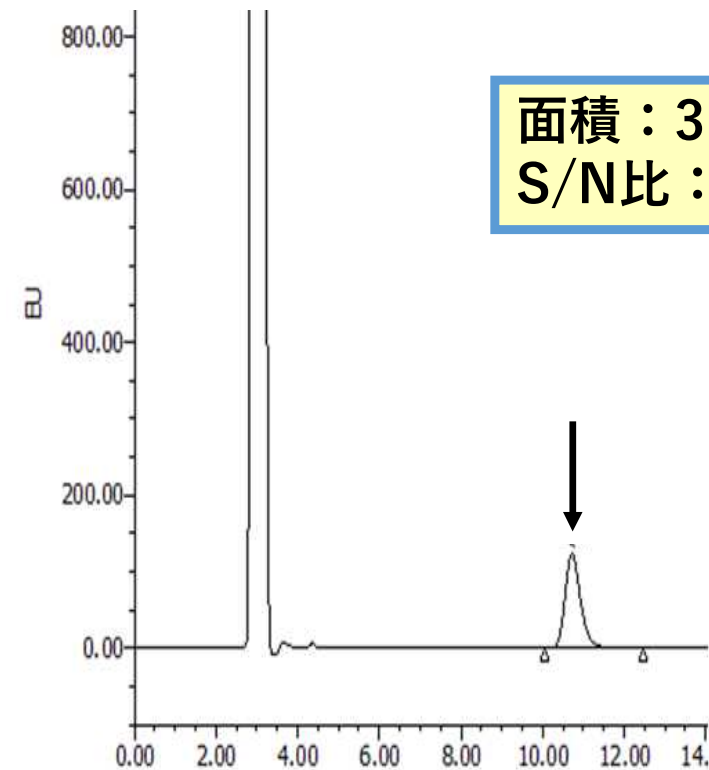
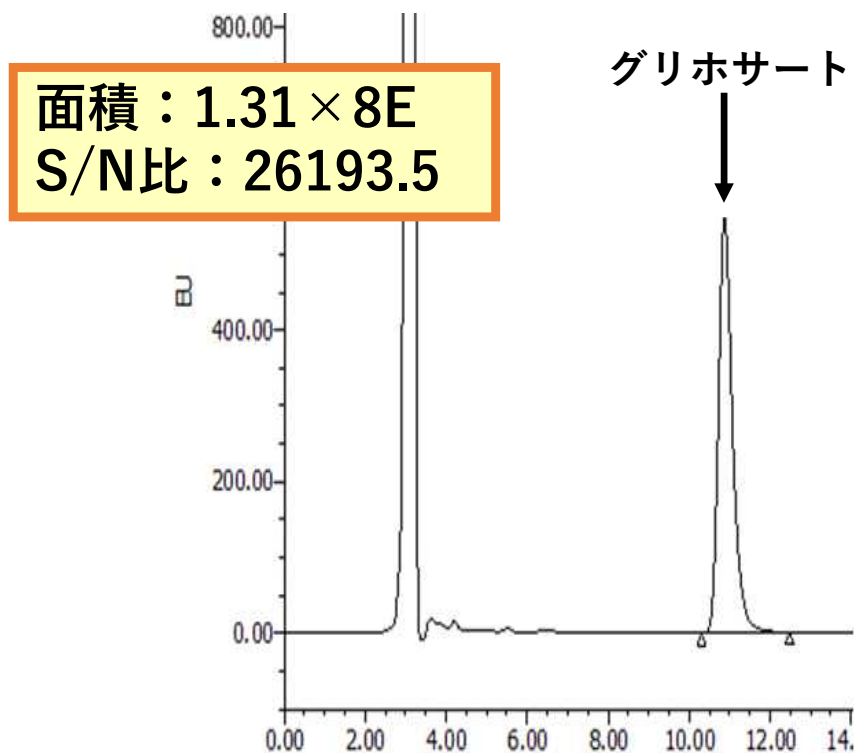
【結果】② 分析条件の検討

6

＜誘導体化用溶媒の比較（標準液 $0.1 \mu\text{g/mL}$ ）＞

水：アセトニトリル(1:1)

水：メタノール(1:1)

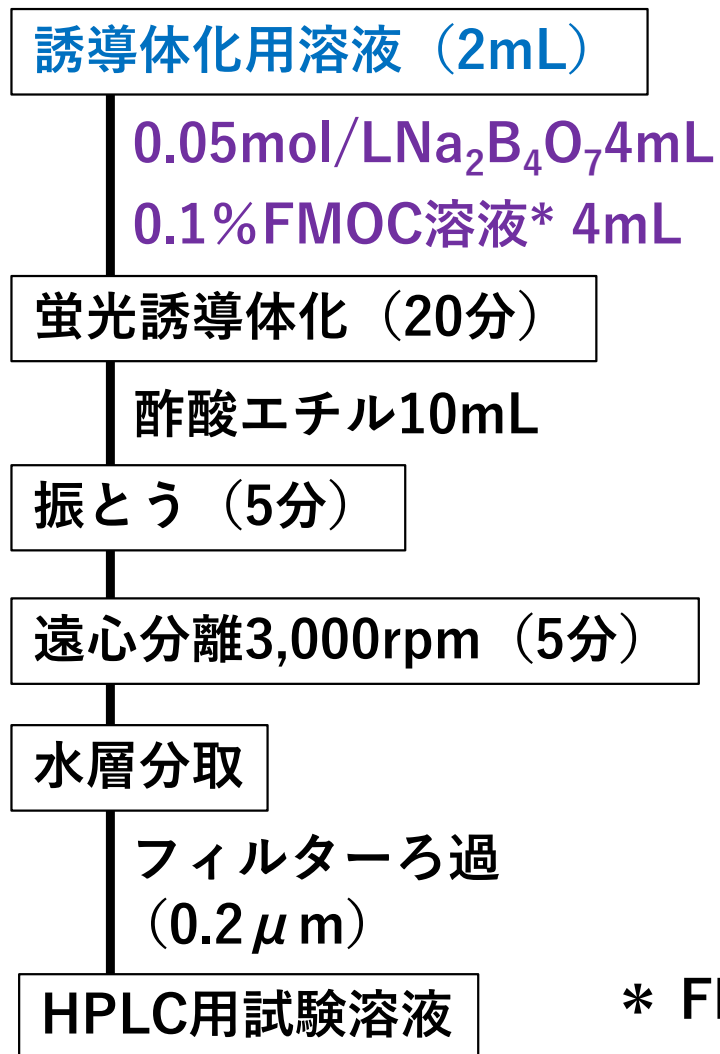


面積値、S/N比ともアセトニトリルが良好

【結果】② 分析条件の検討

7

< 誘導体化フロー図 >



誘導体化用溶液

水：アセトニトリル(1:1)とすることで
低濃度の測定が可能になった。

$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 及び FMOC 溶液

低濃度まで測定可能であり、
再現性が良い濃度及び添加量を設定した。

* FMOC: 9-フルオレニルメチルクロロホルマー

【結果】② 分析条件の検討

8

< HPLC測定条件 >

装置：蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ(Waters社製ArcHPLC)

カラム：Partisil-10 SAX 4.6 mmx250 mm(メルク株式会社製)

カラム温度：40 °C 流速：1.0 mL/min

注入量：20 μ L

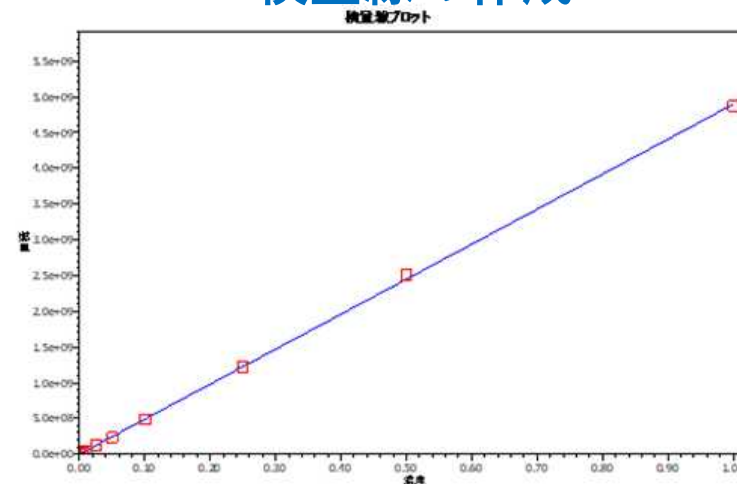
移動相：A液 10 mmol/L KH_2PO_4 緩衝液 (pH2.5)
B液 CH_3CN

グラジエント条件(A:B(min))

70:30(0min)→70:30(30min)→30:70(35min)
→30:70(40min)→70:30(40min)→70:30(55min)

測定波長：ex.268 nm、em.315 nm

検量線の作成

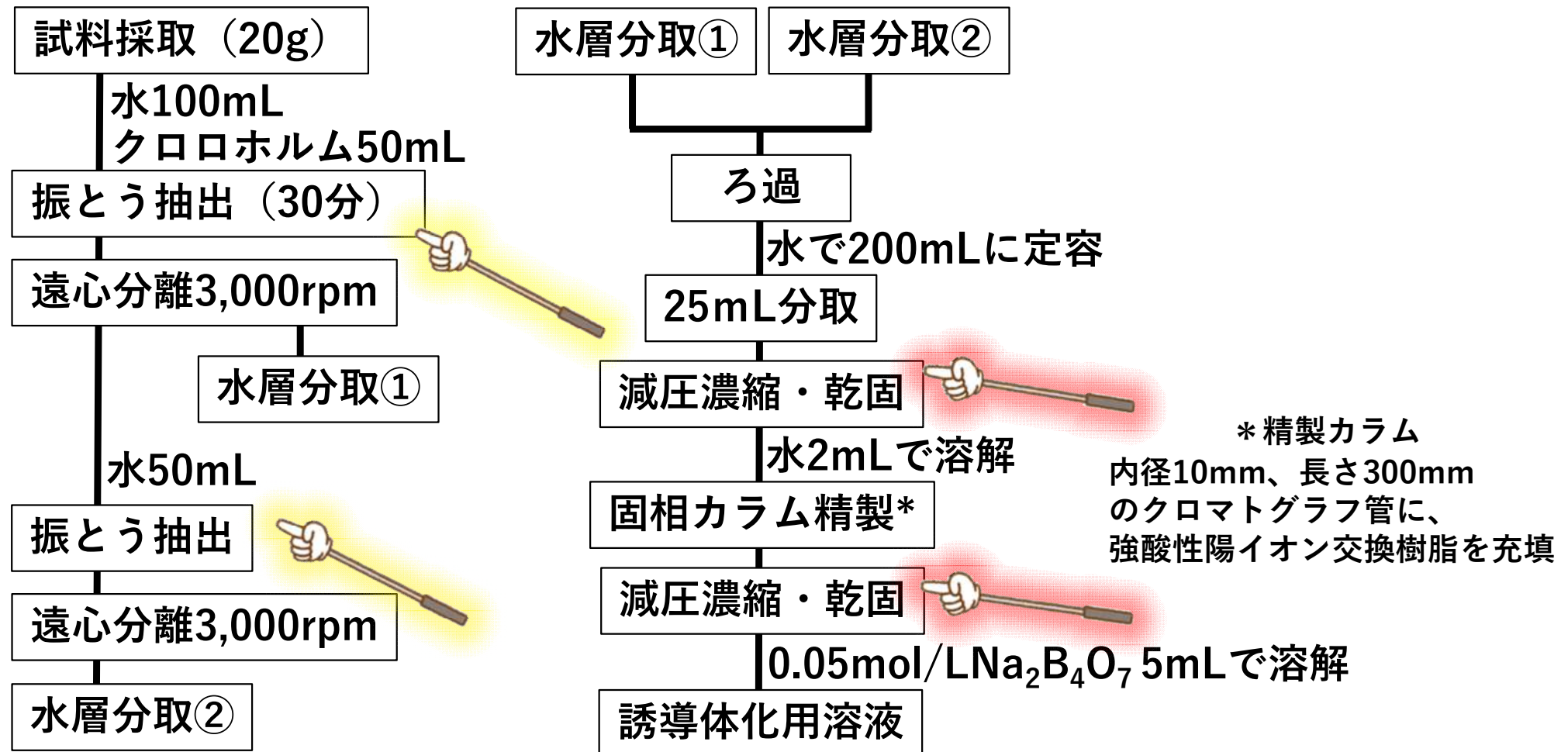


標準溶液濃度0.5~1000ng/mL

$R^2=0.999815$

【結果】③ 試料の前処理方法の検討 9

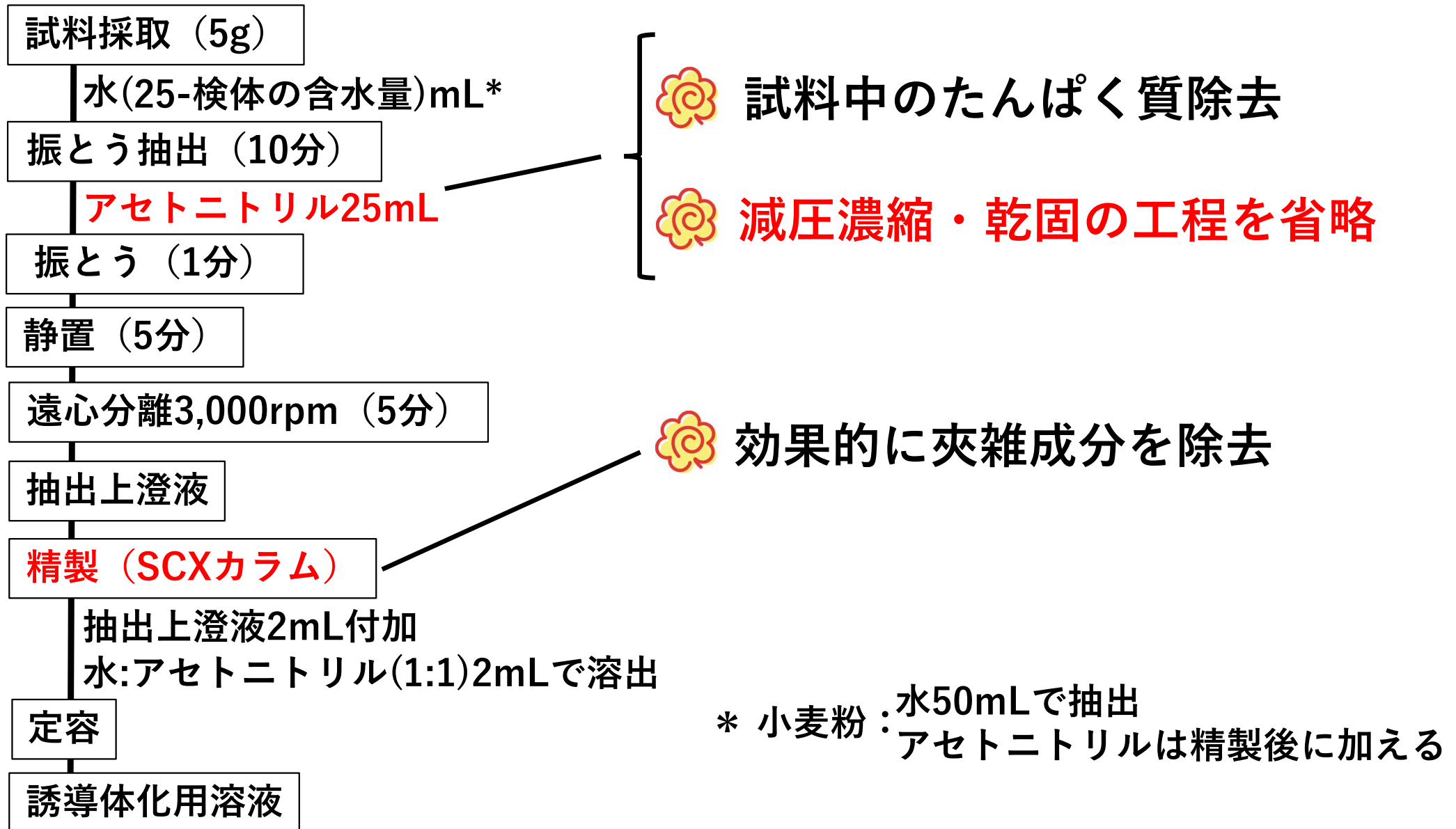
< 公定法フロー図（茶以外） >



2度の抽出工程及び減圧濃縮・乾固の工程を含むため、
複雑で時間を要する。

【結果】③ 試料の前処理方法の検討 10

< 前処理フロー図 >

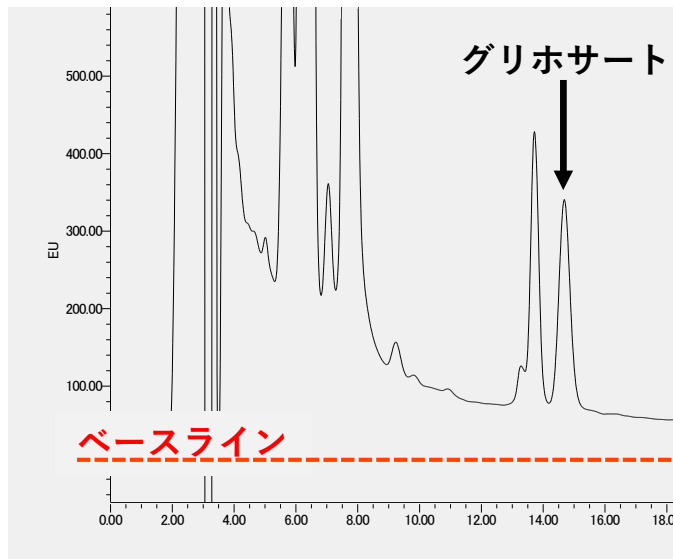


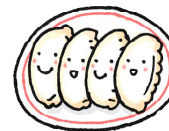
【結果】③ 試料の前処理方法の検討 ¹¹

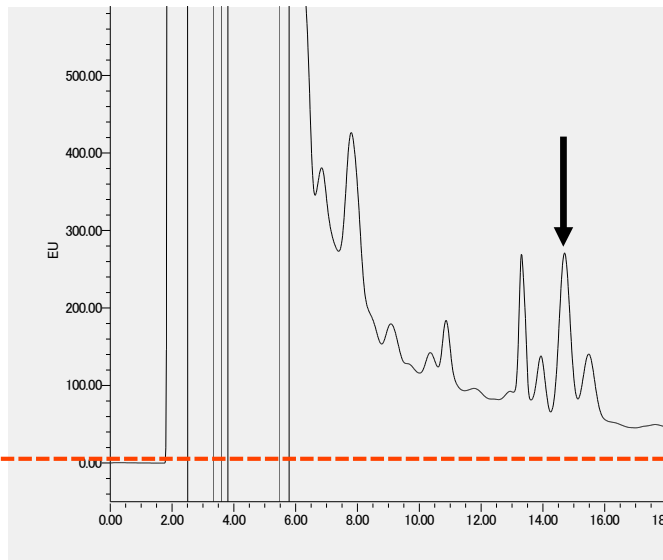
＜精製カラムの比較＞

精製カラムを使用しない場合

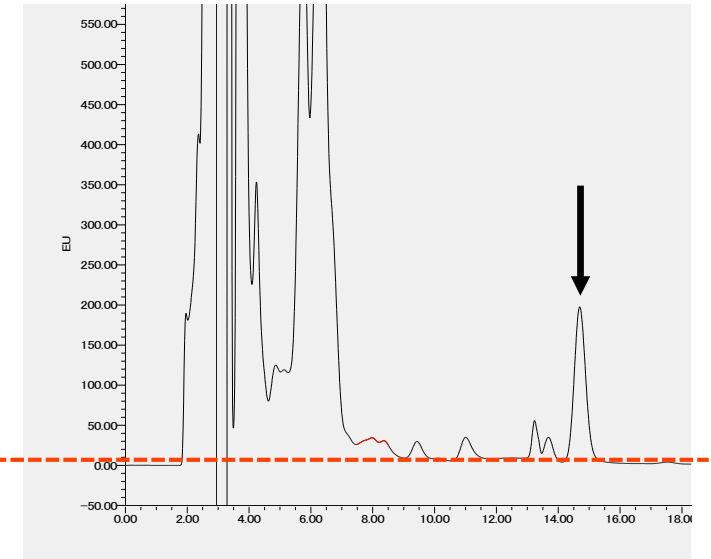
牛乳 



餃子 



ハチミツ 

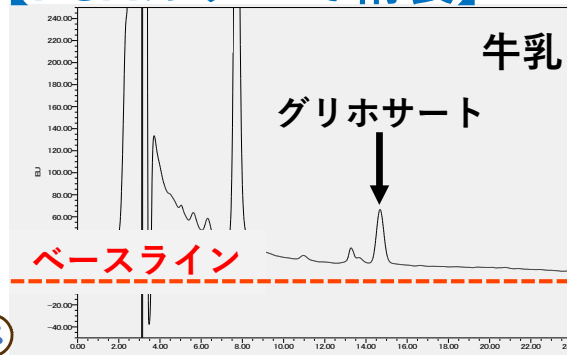


ベースライン復帰
×

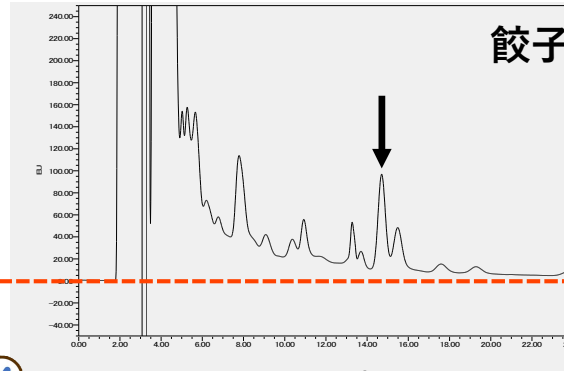
【結果】③ 試料の前処理方法の検討 12

< 精製カラムの比較 >

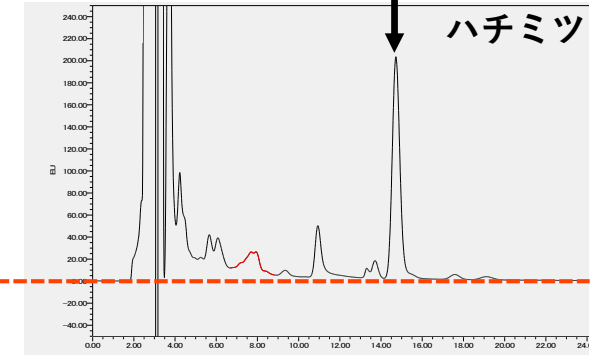
【PSAカラムで精製】



回収率 : 48% S/N比 : 45.5
分離度 : 2.3

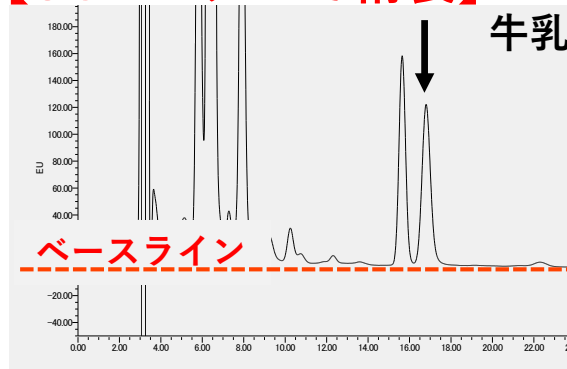


回収率 : 74% S/N比 : 24.5
分離度 : 1.0

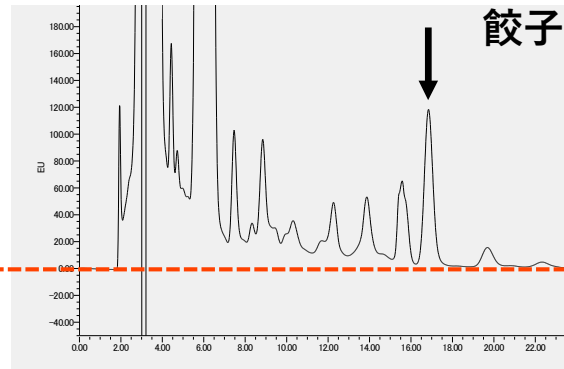


回収率 : 167% S/N比 : 127.4
分離度 : 1.6

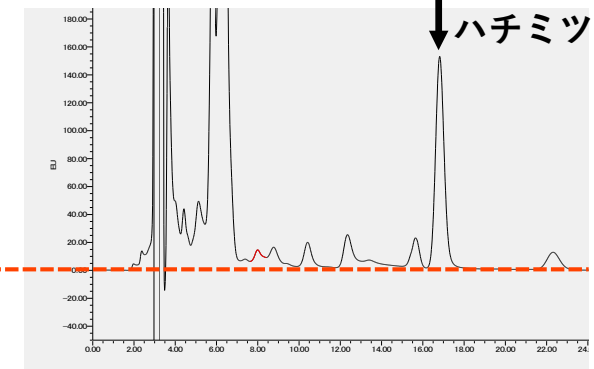
【SCXカラムで精製】



回収率 : 113% S/N比 : 116.6
分離度 : 2.2



回収率 : 75% S/N比 : 18.7
分離度 : 2.4



回収率 : 102% S/N比 : 1899
分離度 : 2.3



精製にSCXカラムを使用することとした

【結果】④ 試験法の性能評価

13

< 性能評価方法 >

検討した試験法で添加回収試験(n=3)を行い
性能パラメーター（真度、併行精度、選択性、S/N比）を確認

評価濃度

1.0 $\mu\text{g/g}$

目標値*

真 度：50～200%

併行精度：30%未満

選 択 性：妨害ピーク面積は、添加濃度に相当する
ピーク面積の1/3未満

S/N比：評価濃度ピークのS/N比10以上

* 加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法について
(平成25年3月26日厚生労働省事務連絡)

【結果】 試験法の性能評価

14

< 性能評価試験結果 >

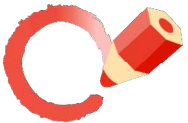
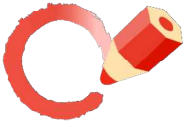
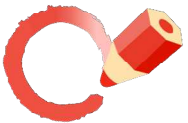
	真度(%)	併行精度(%)	選択性	S/N比
(目標値)	(50~200)	(30未満)	(1/3未満)	(10以上)
緑茶	111	2.8	妨害ピークなし	71.9
ぎょうざ	75	0.5	妨害ピークなし	18.1
ソース	84	1.8	妨害ピークなし	107.1
ハチミツ	103	1.0	妨害ピークなし	1909.7
大豆	77	4.5	妨害ピークなし	25.7
小麦粉	100	1.8	妨害ピークなし	22.1
牛乳	117	2.8	妨害ピークなし	113.6
マヨネーズ	106	0.7	妨害ピークなし	2678.3
カレー	84	2.3	妨害ピークなし	48.6



全てのパラメータで目標値を満たした

【結果】まとめ

15

-  食品中のグリホサートについて有効な分析法を確立できた。
-  簡便かつ迅速に実施できる。
抽出工程 1 回
減圧濃縮・乾固が不要
-  混入事例等発生時の原因物質特定のための検査体制が強化された。



【考察】成果の活用・期待される効果 ¹⁶

新たな試験法を確立 検査体制を整備



健康危機管理事例発生時
早急な検査実施が可能



原因物質の早期特定
健康被害拡大を防止



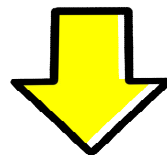
参考資料

分析に用いる装置・検出器の選定

<LC-MS/MS>



グリホサートと金属がキレートを形成
ピーク形状悪化・感度低下



配管をリン酸でコーティングする必要

- ・手間が大きい
- ・時間が掛かる
- ・他の検査にも影響



参考資料

残留基準への適合性判定試験

<課題>

- ・代謝物も測定（LC-MS/MS）
- ・妥当性評価試験に適合

➡ LC-MS/MSは定性能力に優れている
誘導体化が必要ない

➡ 評価したパラメータは全て
妥当性評価の基準にも適合

夾雑物を非常にきれいに除去



残留基準値検査に大きく前進

